



PCT

## 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<b>(51) 国際特許分類 5</b> <b>C12P 21/04, C12N 1/14</b> <b>// (C12P 21/04, C12R 1:645)</b> <b>(C12N 1/14, C12R 1:645)</b>	A1	<b>(11) 国際公開番号</b> <b>WO 92/13094</b>  <b>(43) 国際公開日</b> 1992年8月6日 (06. 08. 1992)
<b>(21) 国際出願番号</b> PCT/JP92/00047 <b>(22) 国際出願日</b> 1992年1月22日 (22. 01. 92)  <b>(30) 優先権データ</b> 特願平3/87151 1991年1月25日 (25. 01. 91) JP  <b>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について)</b> 藤沢薬品工業株式会社 (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP] 〒541 大阪府大阪市中央区道修町3丁目4番7号 Osaka, (JP) <b>(72) 発明者; および</b> <b>(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ)</b> 後藤俊男 (GOTO, Toshio) [JP/JP] 〒305 茨城県つくば市千現1丁目14-20 Ibaraki, (JP) 木野 亨 (KINO, Tohru) [JP/JP] 〒300 茨城県土浦市中村南6丁目11-11 Ibaraki, (JP) 奥原正国 (OKUHARA, Masakuni) [JP/JP] 〒305 茨城県つくば市梅園2丁目14-10 Ibaraki, (JP) 田中洋和 (TANAKA, Hirokazu) [JP/JP] 〒300 茨城県土浦市乙戸南1丁目4-8 Ibaraki, (JP) 鶴海泰久 (TSURUMI, Yasuhisa) [JP/JP] 〒305 茨城県つくば市竹園3丁目21-1-510-601 Ibaraki, (JP) 高瀬茂弘 (TAKASE, Shigehiro) [JP/JP] 〒315 茨城県石岡市総社1丁目12-10 Ibaraki, (JP)		<b>(74) 代理人</b> 弁理士 青木 高 (AOKI, Takashi) 〒532 大阪府大阪市淀川区加島2丁目1番6号 藤沢薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka, (JP)  <b>(81) 指定国</b> AT (欧州特許), AU, BE (欧州特許), CA, CH (欧州特許), DE (欧州特許), DK (欧州特許), ES (欧州特許), FR (欧州特許), GB (欧州特許), GR (欧州特許), IT (欧州特許), JP, LU (欧州特許), MC (欧州特許), NL (欧州特許), SE (欧州特許), US.  添付公開書類 国際調査報告書
<b>(54) Title: PROCESS FOR PRODUCING CYCLOSPORIN A AND/OR C</b>  <b>(54) 発明の名称</b> シクロスポリンAおよび/またはCの製造法 <b>(57) Abstract</b>  A process for producing cyclosporin A and/or C by culturing a cyclosporin A and/or C producing bacterium belonging to the genus <i>Nectria</i> , e.g. <i>Nectria</i> sp. F-4908, in a medium and isolating cyclosporin A and/or C thus produced from the medium.		

(57) 要約

本発明は、ネクトリア属に属するシクロスポリン A および / または C 生産菌 (例えばネクトリア・エスピー・F-4908) を培地に培養し、その培養物からシクロスポリン A および / または C を採取することを特徴とするシクロスポリン A および / または C の製造法に関するものである。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第1頁にPCT加盟国を特定するために使用されるコード

AT	オーストリア	ES	スペイン	MG	マダガスカル
AU	オーストラリア	FI	フィンランド	ML	マリ
BB	バルバドス	FR	フランス	MN	モンゴル
BE	ベルギー	GA	ガボン	MR	モーリタニア
BF	ブルキナファソ	GN	ギニア	MW	マラウイ
BG	ブルガリア	GB	イギリス	NL	オランダ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ	NO	ノルウェー
BR	ブラジル	HU	ハンガリー	PL	ポーランド
CA	カナダ	IE	アイルランド	RO	ルーマニア
CF	中央アフリカ共和国	IT	イタリア	RU	ロシア連邦
CG	コンゴ	JP	日本	SD	スーダン
CH	スイス	KP	朝鮮民主主義人民共和国	SE	スウェーデン
CI	コートジボワール	KR	大韓民国	SN	セネガル
CM	カメルーン	LI	リヒテンシュタイン	SU	ソヴィエト連邦
CS	チェコスロバキア	LK	スリランカ	TD	チャード
DE	ドイツ	LU	ルクセンブルグ	TG	トogo
DK	デンマーク	MC	モナコ	US	米国

## 明 細 書

## シクロスポリン A および / または C の製造法

## 技 術 分 野

- 5       本発明は、免疫抑制作用、抗炎症作用等を有するシクロスポリン A および / または C の製造法に関するものであり、医薬品等の製造分野で利用される。

## 背 景 技 術

- 10       従来、シクロスポリン A および C の構造に関しては、それぞれヘルベチカ・キミカ・アクタ (Helvetica Chimica Acta) 第 59 巻、第 1075～1092 頁 (1976)、同第 60 巻、第 1247～1255 頁 (1977) および同第 70 巻、第 13～36 頁 (1987) に記載されており、またシクロスポリン A、
- 15       C 等のシクロスポリン系化合物の製造法としては、特開昭 50-89598 号公報、特開昭 52-59180 号公報、特開昭 55-55150 号公報および特開昭 57-63093 号公報記載の方法が知られている。

## 20       発 明   の   開   示

- 本発明の発明者らは、シクロスポリン系化合物の製造法について鋭意研究した結果、上記の公知の方法で用いられる菌とは異なるネクトリア属に属する新菌種がシクロスポリン A および / または C を生産することを新たに
- 25       見出した。

本発明は、ネクトリア属に属するシクロスポリン A および / または C 生産菌を培地に培養し、その培養物からシクロスポリン A および / または C を採取する方法に関するものである。

- 5 本発明で使用するネクトリア属に属するシクロスポリン A および / または C 生産菌のうち、本発明者等が日本国鹿児島県奄美大島名瀬市で採取した土壌試料から新たに分離した菌株 (F-4908 株と番号を付す) は、以下に示すような菌学的性質を有する。

10 種々の培地上での特徴

表 1 に、F-4908 株をバレイショ・ブドウ糖寒天培地、麦芽エキス寒天培地およびコーンミール寒天培地上、25℃で2週間培養したときの発育状態の特徴を示す。色名は、日本色彩研究所の「色の標準」を使用した。

15 表 1 F-4908 株の各種培地における培養上の特徴

	バレイショ・ブドウ糖寒天培地	麦芽エキス寒天培地	コーンミール寒天培地
集落の形	円形にならない	やや円形	円形
集落の径	1.5cm	1.5~2.0cm	2.5~3.0cm
集落の面表	しわ状で盛り上がりフェルト状で短絨毛で覆われる	中心部にしるわが生じる平坦でフェルト状、短絨毛で覆われる	平坦で薄い気生菌糸は立ち上がらない

5

10

15

	パレイショ・ブドウ 糖寒天培地	麦芽エキス 寒天培地	コーンミール 寒天培地
表面の色	明るいオリ ーブ～オリ ーブまたは 灰味オリ ーブ中心部 に橙々色の 分泌液が生 ずる	薄いオリ ーブ～明るい オリーブ	白色 中心部のみ 黄色
裏面の色	暗い黄茶～ 暗い茶培 地中に茶色 の可溶性色 素が拡散	黄茶 培地中に黄 色の可溶性 色素が拡散	白色 中心部のみ 黄色
その他の 特徴	有性、無性 ともに胞子 形成は観ら れない	有性、無性 ともに胞子 形成は観ら れない	25℃で2週間 培養したとき 分生子が形成 される 25℃で4週間 以上培養した とき子のう殻 が形成される

### 生理学的特徴

F-4908株は、4～35℃の範囲で生育可能で、最適生育温度は18～28℃である。また、本菌株の生育pH範囲はpH3～10、最適生育pHはpH6～7である。

20

F-4908株の有性生殖形態はコーンミール寒天上、25℃で4週間以上培養したときに観られ、子のう殻中に褐色の子のう胞子が形成される。また無性生殖形態は多くの種類の培地上で形成され、分生子形成様式は内分芽型のフィアロ型である。

25

表面殺菌した植物葉上に接種した場合に、子のう殻

は表在性であり、形状は球形もしくは亜球形からアン  
プル形をしており、乳頭状の開孔部を一つ持つ。側毛  
はなく、色は明るい茶色から橙々色であり、直径150～  
250  $\mu\text{m}$ 、子のう果壁は薄く、3～4層の細胞層からな  
5 っている。開孔部は直径70～80  $\mu\text{m}$ 、高さ50～60  $\mu\text{m}$ の隆  
起であり、孔口がひとつ開き、内側にペリフィソイズ型  
の周糸を備える。子のうは一重壁子のうで非アミロイ  
ド性、先端構造は発達せず、円筒形から桿棒形で、長さ  
60～85  $\mu\text{m}$ 、幅7.5～11  $\mu\text{m}$ 、8個の子のう胞子が単列に  
10 形成される。子のう胞子は茶色から褐色で表面は刺状か  
らこぶ状をしている。子のう胞子は2細胞からなり、そ  
れらの細胞はそれぞれ液胞を一つずつ有しており、長さ  
11～12  $\mu\text{m}$ 、幅6～7  $\mu\text{m}$ で形状は楕円形から広楕円形で  
両端は丸く隔壁部でくびれている。

15 分生子柄は無色、滑面で隔壁があり、単生またはゆる  
ゆるくコレミアを形成している。分生子柄の長さは50～  
100  $\mu\text{m}$ 、幅は3～4.5  $\mu\text{m}$ であり、頂端細胞がフィアライ  
ドになる。フィアライドは無色、滑面で、形状は桿形ま  
たは糸状である。フィアライドの長さは30～45  $\mu\text{m}$ 、幅  
20 は2～3.5  $\mu\text{m}$ であり、先端部の幅は1～2  $\mu\text{m}$ で明瞭な  
カラーを有する。

分生子は、1細胞からなり、無色、滑面で形状は楕  
円形から長楕円形である。分生子は長さ5～24  $\mu\text{m}$ 、幅  
2.5～4  $\mu\text{m}$ の範囲で様々な大きさになり、連鎖せずフィ  
25 アライド先端で小塊をつくる。

栄養菌糸は、隔壁を有し、無色、滑面で分枝している。その菌糸細胞は幅  $2 \sim 4.5 \mu m$  の円筒形をしている。また、厚膜胞子は形成されない。

5 以上のことより F-4908 株は、ネクトリア属に所属し、子のう殻が単生して子座を形成せず、子のう殻壁は薄く、褐色で刺状の子のう胞子を形成するという特徴をもつ。また、その無性生殖形態はアクレモニウム属 (Acremonium Link) またはアクロシリンドリウム属 (Acrocylindrium Bonorden) に帰属される。これらの特徴から、本菌株はマイコロジカル・ペーパーズ (Mycological Papers) 第 73 巻、第 1 ~ 115 頁 (1959); マイコロジア (Mycologia) 第 65 巻、第 401 ~ 420 頁 (1973); およびニュージーランド・ジャーナル・オブ・ボタニー (New Zealand Journal of Botany) 第 14 巻、第 231 ~ 260 10 頁 (1976) 記載のネクトリア属の分類基準に従えば、ネクトリア・ペツィツァ・トードゥ・エクス・フリース・フリース (Nectria peziza (Tode ex Fr.) Fr.) またはネクトリア・デンティフェラ・サミュエル (Nectria dentifera Samuels) と比較的類似している。しかし、20 ネクトリア・ペツィツァは子のう胞子の表面構造が線状隆起で本菌株のそれと異なり、子のう殻の大きさ、子のう胞子の大きさ、形状、着色の有無等でも明らかに相異がみられる。また、ネクトリア・デンティフェラについても、本菌株とは子のう胞子の表面構造、大きさ、形状、着色の有無、子のうの大きさ、子のう殻の形状等で 25

相異点をもつ。したがって無性生殖形態がアクレモニウム属またはアクロシンドリウム属である既知のネクトリア属菌の中には、F-4908株に相当するものはないと思われる。

- 5       以上のことから、F-4908株をネクトリア属の新菌種と認め、ネクトリア・エスピー・F-4908 (Nectria sp. F-4908) と命名した。

10       このネクトリア・エスピー・F-4908株は、通商産業省工業技術院微生物工業技術研究所(日本国茨城県つくば市東1丁目1-3)に微工研条寄第3235号として平成3年1月22日に寄託されている。

- 15       この発明で使用するシクロスポリンAおよび/またはC生産菌は、例えばX線、紫外線等の照射処理、例えばナイトロジェン・マスタード、アザセリン、亜硝酸、2-アミノプリン、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(NTG)等の変異誘起剤による処理、ファージ接触、形質転換、形質導入、接合等の通常用いられる菌種変異処理方法により、シクロスポリンAおよび/またはCの生産能を高めることができる。

- 20       ネクトリア属に属するシクロスポリンAおよび/またはC生産菌を培地に培養することにより行われるシクロスポリンAおよび/またはCの生産は原則的には一般微生物の培養方法に準ずるが、通常は液体培地による深部培養法が有利である。培養に用いられる培地としては、  
25       ネクトリア属に属するシクロスポリンAおよび/または



C生産菌が利用する栄養源を含有する培地であればよい。すなわち、合成培地、半合成培地あるいは天然培地  
が用いられ、培地組成は炭素源としては、例えばグル  
コース、シュークロース、マルトース、グリセリン、で  
5 ん粉、液化でん粉等が用いられ、窒素源として、例えば  
肉エキス、カゼイン加水分解物、ペプトン、グルテン  
ミール、コーンミール、綿実粉、大豆粉、コーン・ス  
チープ・リカー、ピーナツパウダー、小麦胚芽、乾燥酵  
母、酵母エキス、尿素、りん酸アンモニウム等が用いら  
10 れる。このほか、例えばりん酸水素二ナトリウム、りん  
酸二水素カリウム、塩化マグネシウム、硫酸マグネシウ  
ム、炭酸カルシウム、ヨウ化ナトリウム、塩化コバルト  
6 水塩等の無機塩も必要に応じて培地に添加される。

また培養中発泡の著しい時には、例えば大豆油、亜麻  
15 仁油等の植物油、オクタデカノール、テトラデカノール、  
ヘプタノール等の高級アルコール類、シリコン化合物  
等の消泡剤を適宜添加すればよい。

培養温度は25～30℃前後が適当であり、培養容量の増  
大に従って適宜種培養を行なうと好結果が得られること  
20 が多い。本培養の培養時間は50～300時間位が適当であ  
り、培地が濃厚になるのに従って、培養時間をさらに延  
長してもよい。

以上述べた培養条件は使用生産菌株の特性に応じてそ  
れぞれに最適の条件を選択して適用される。

25 次に、培養により生成したシクロスポリンAおよび／

またはCは通常、培養物中の菌体内および濾液内に蓄積されるので、一般には遠心分離、濾過等の手段により、菌体および濾液(上澄液)に分離した後、一般抗生物質の製造に用いられる手段により分離、精製および採取される。すなわち、菌体を溶媒に溶解させ目的物質を溶媒抽出し濾液と合わせた後、液性変換、例えば陰イオン交換樹脂、陽イオン交換樹脂、非イオン性吸着樹脂等の樹脂による処理、例えば活性炭、けい酸、シリカゲル、アルミナ、セルロース等の吸着剤による処理、結晶化、再結晶等の手段を任意の順序に組み合わせまたは反復して適用することにより、目的物質であるシクロスポリンAおよび/またはCを分離、精製することができる。

以下、実施例により本発明を説明する。

500ml容三角フラスコ3本に可溶性デンプン2%、トウモロコシデンプン1%、グルコース1%、綿実粉1%、酵母エキス0.5%、ペプトン0.5%、コーン・スチープ・リカー0.5%および炭酸カルシウム0.2%(pH6.0)から成る種培養培地を160mlずつ入れ、滅菌する。これらにネクトリア・エスピー・F-4908株(微工研条寄第3235号)を接種し、25°Cで96時間培養を行い、種培養液とする。

別に、30ℓ容ジャーファーマンターに可溶性デンプン6%、コーン・スチープ・リカー3%、ピーナツパウダー1%、酵母エキス1%、アデカノール0.1%および炭酸カルシウム0.2%(pH6.5)から成る生産培地を20ℓ

入れ滅菌する。これに上記の種培養液を加え、25℃で168時間培養する(通気量20ℓ/分、内圧1.0kg/cm<sup>2</sup>、攪拌350rpm)。培養終了後、培養液にラジオライト(商品名:昭和化学工業社製)(500g)を加え、フィルター  
5 プレスで濾過し、濾液13ℓおよび菌体を得る。

濾取した菌体に7ℓのアセトンを加え、2時間室温に放置後濾過し、菌体のアセトン抽出液を得る。先に得られた濾液とアセトン抽出液を合わせ、ダイヤイオンHP-20(商品名:三菱化成工業社製)(2ℓ)に吸着させる。水(4ℓ)および50%アセトン水溶液(4ℓ)で順次洗淨した後、アセトンで溶出し、2ℓずつ分取する。フラクション4の画分を減圧濃縮してアセトンを留去する。酢酸エチル(20ml)で2回抽出し、抽出液を減圧濃縮して褐色の油状物を得る。油状物をシリカゲルカラム  
10 クロマトグラフィーに付し、n-ヘキサン(100ml)、n-ヘキサン-酢酸エチル(1:1 v/v、160ml)、n-ヘキサン-酢酸エチル(1:2 v/v、200ml)、酢酸エチル(300ml)およびアセトン(100ml)で順次溶出し溶出液を20mlずつ分取する。

20 フラクション24から27の画分を合わせ、減圧濃縮し、シクロスポリンA(196mg)を得る。

さらにフラクション37から40の画分を合わせ、減圧濃縮する。残渣(55mg)を85%メタノール水溶液に溶解し、NSゲル(日本精密化学社製)カラム(30ml)に付して精製し、シクロスポリンC(34mg)を得る。  
25

上記で得られたシクロスポリン A の  $^1\text{H}$  核磁気共鳴吸収スペクトルおよび赤外線吸収スペクトルを、それぞれ第 1 図および第 3 図に示す。実測の各種物性値は、ヘルベチカ・キミカ・アクタ (Helvetica Chimica Acta) 第 59 巻、第 1075~1092 頁 (1976) および同第 70 巻、第 13~36 頁 (1987) 記載のシクロスポリン A の物性値とよく一致した。またシクロスポリン C の  $^1\text{H}$  核磁気共鳴吸収スペクトルおよび赤外線吸収スペクトルを、それぞれ第 2 図および第 4 図に示す。実測の各種物性値は、ヘルベチカ・キミカ・アクタ第 60 巻、第 1247~1255 頁 (1977) および同第 70 巻、第 13~36 頁 (1987) 記載のシクロスポリン C の物性値とよく一致した。

#### 図面の簡単な説明

第 1~4 図は、この発明により得られるシクロスポリン A および C の  $^1\text{H}$  核磁気共鳴吸収スペクトルおよび赤外線吸収スペクトルを示すものであり、第 1 図はシクロスポリン A の  $^1\text{H}$  核磁気共鳴吸収スペクトル、第 2 図はシクロスポリン C の  $^1\text{H}$  核磁気共鳴吸収スペクトル、第 3 図はシクロスポリン A の赤外線吸収スペクトルおよび第 4 図はシクロスポリン C の赤外線吸収スペクトルをそれぞれ示す。

11

## 請 求 の 範 囲

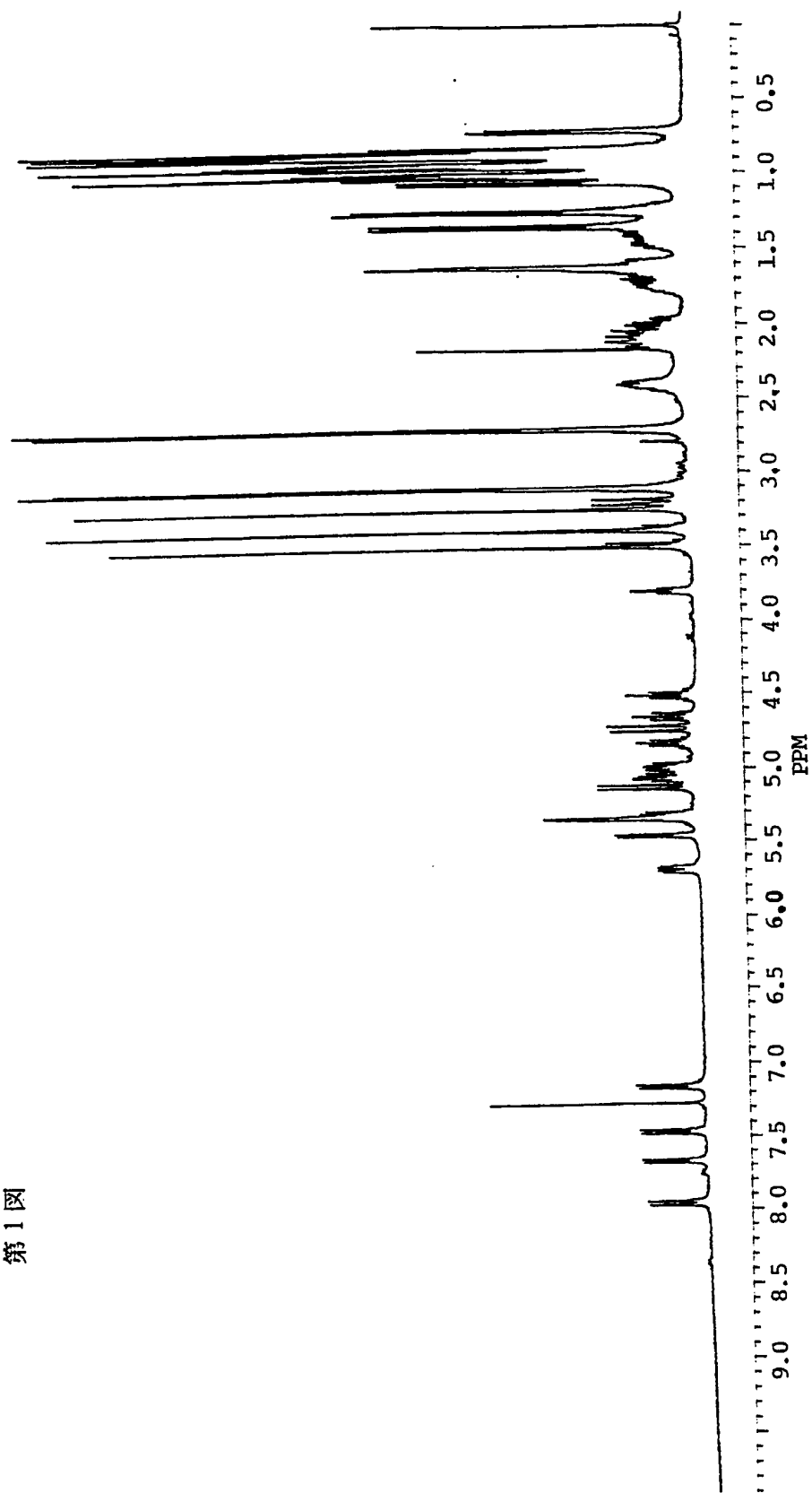
1. ネクトリア属に属するシクロスポリン A および／または C 生産菌を培地に培養し、その培養物からシクロスポリン A および／または C を採取することを特徴とするシクロスポリン A および／または C の製造法。  
5
2. ネクトリア属に属するシクロスポリン A および／または C 生産菌がネクトリア・エスピー・F - 4908である請求の範囲第 1 項に記載のシクロスポリン A および／または C の製造法。  
10
3. ネクトリア・エスピー・F - 4908。

15

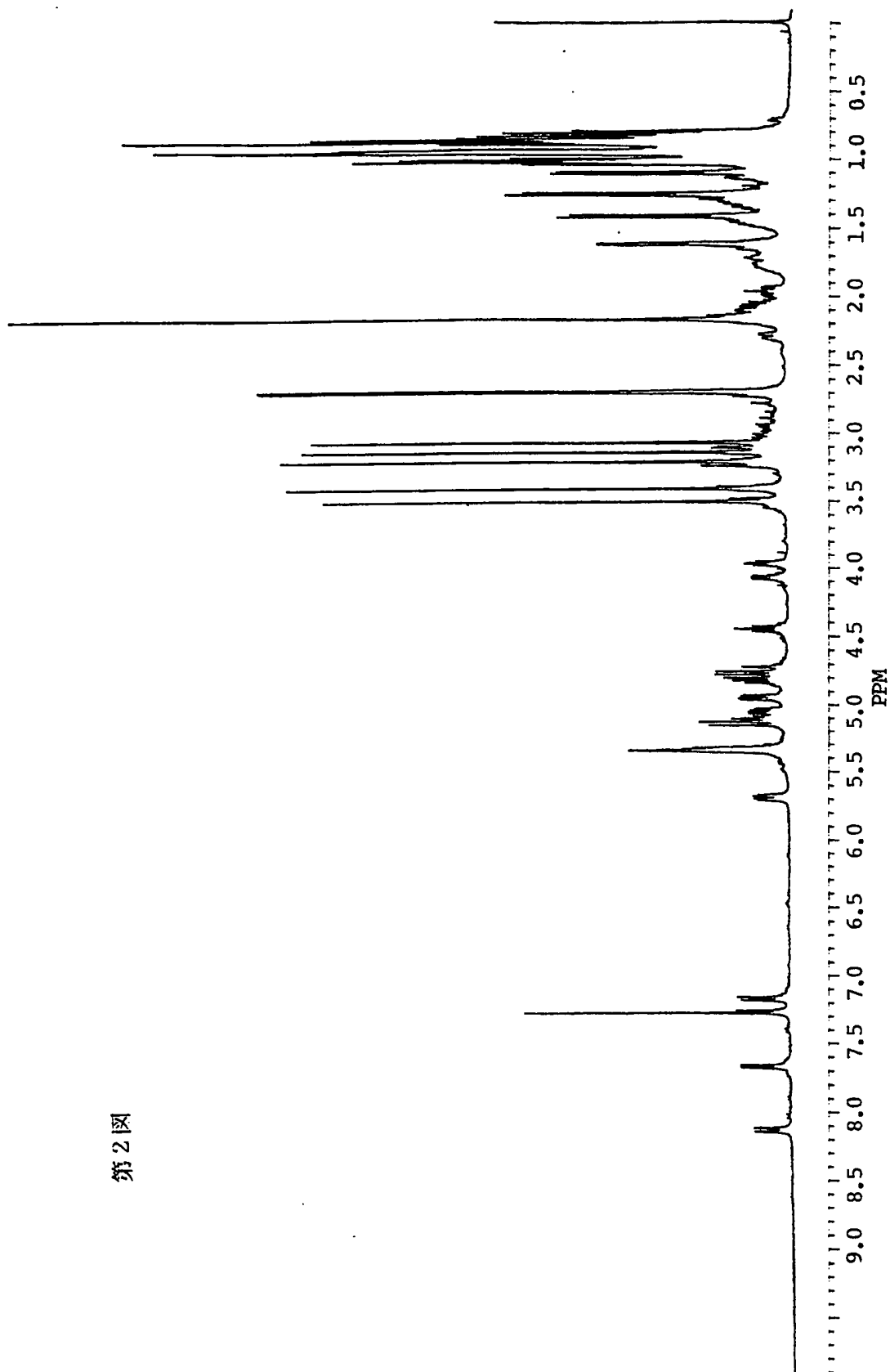
20

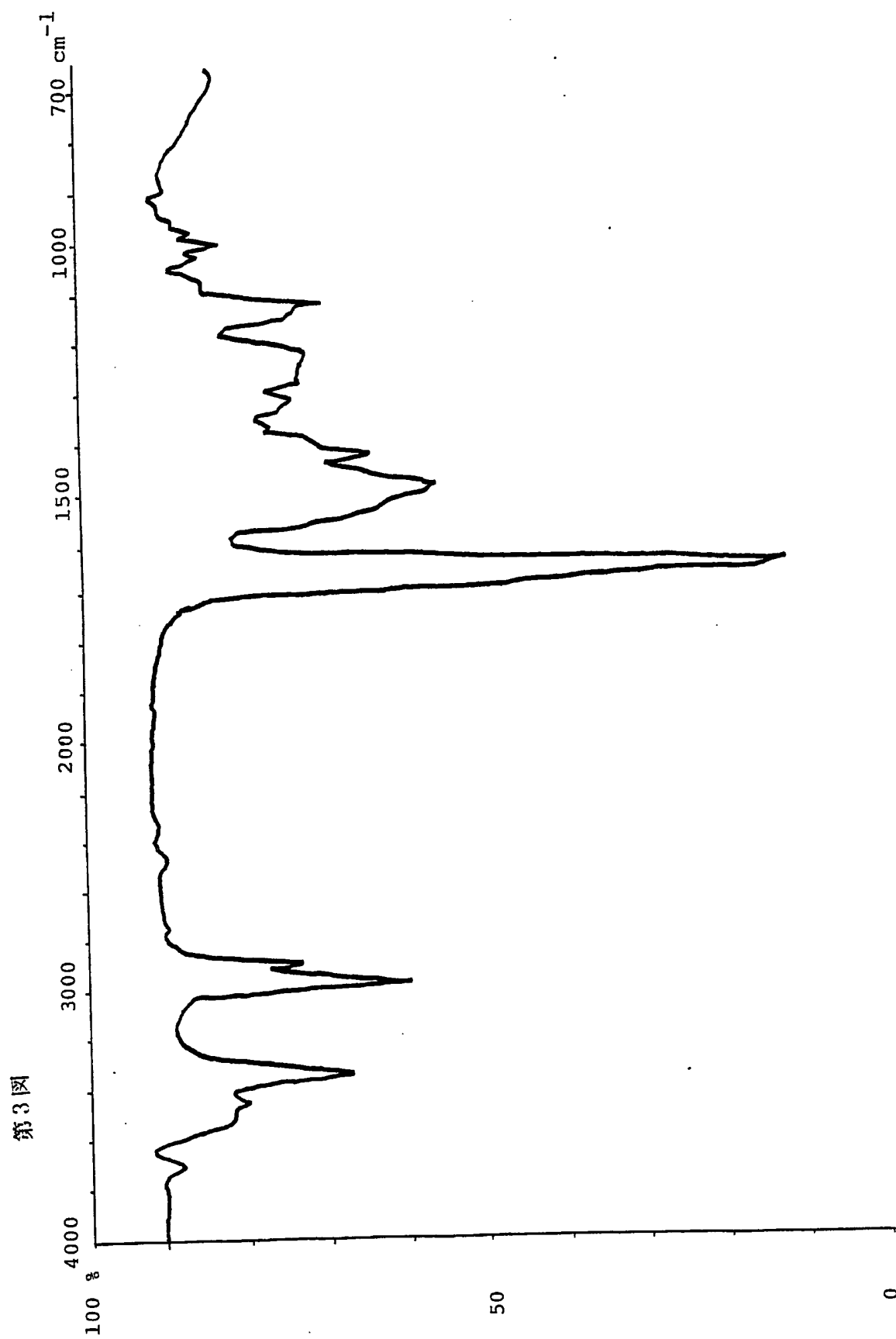
25

第1図

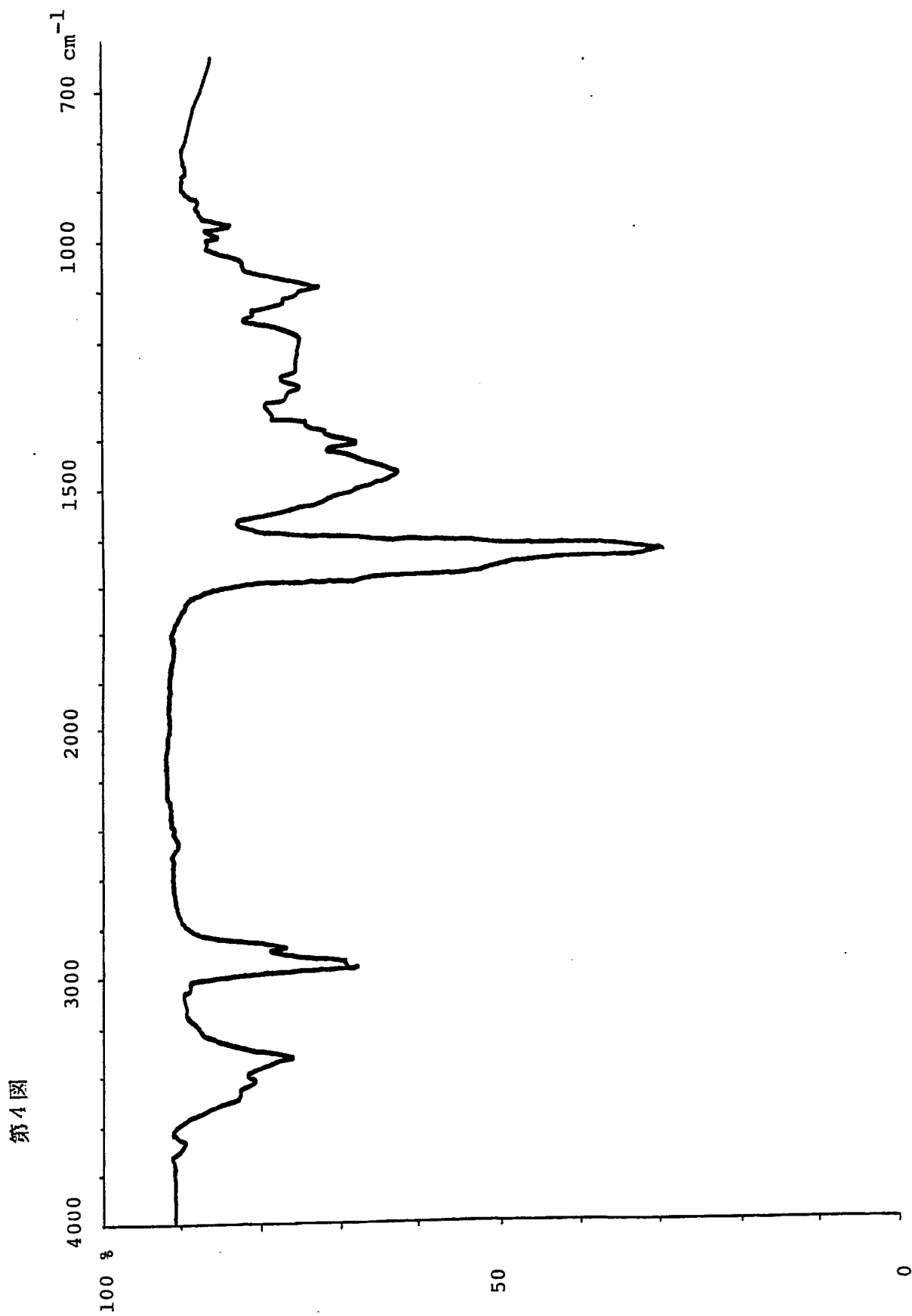


第2図









# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/JP92/00047

<b>I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> (If several classification symbols apply, indicate all) <sup>6</sup>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC		
Int. Cl <sup>5</sup> C12P21/04, C12N1/14// (C12P21/04, C12R1:645) (C12N1/14, C12R1:645)		
<b>II. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum Documentation Searched <sup>7</sup>		
Classification System	Classification Symbols	
IPC	C12P21/04, C12N1/14	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched <sup>8</sup>		
Chemical Abstracts Data Base (CA, REGISTRY) Biological Abstracts Data Base (BIOSIS)		
<b>III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <sup>9</sup></b>		
Category <sup>10</sup>	Citation of Document, <sup>11</sup> with indication, where appropriate, of the relevant passages <sup>12</sup>	Relevant to Claim No. <sup>13</sup>
A	JP, A, 57-63093 (Mitsubishi Kasei Corp.), April 16, 1982 (16. 04. 82), (Family: none)	1-3
<p>* Special categories of cited documents: <sup>10</sup></p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"A" document member of the same patent family</p>		
<b>IV. CERTIFICATION</b>		
Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report	
April 13, 1992 (13. 04. 92)	May 12, 1992 (12. 05. 92)	
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer	
Japanese Patent Office		

I. 発明の属する分野の分類		
国際特許分類 (IPC) Int. Cl. <sup>3</sup> C12P21/04, C12N1/14 //(C12P21/04, C12R1:645)(C12N1/14, C12R1:645)		
II. 国際調査を行った分野		
調 査 を 行 っ た 最 小 限 資 料		
分 類 体 系	分 類 記 号	
IPC	C12P21/04, C12N1/14	
最小限資料以外の資料で調査を行ったもの		
Chemical Abstracts Data Base(CA, REGISTRY) Biological Abstracts Data Base(BIOSIS)		
III. 関連する技術に関する文献		
引用文献の カテゴリー	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	請求の範囲の番号
A	JP, A, 57-63093(三菱化成工業株式会社), 16.4月.1982(16.04.82), (ファミリーなし)	1-3
※引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日 若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に関する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の 日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日の後に公表された文献であって出 願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解 のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新 規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の 文献との、当業者にとって自明である組合せによって進 歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリーの文献		
IV. 認 証		
国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日	
13.04.92	12.05.92	
国際調査機関	権限のある職員	
日本国特許庁 (ISA/JP)	特許庁審査官	4B 8,214
	内 田 俊 生	②

This Page Blank (uspto)